

**Zum Stoffwechsel
von Aminotriazol beim Menschen**

von
Hans-Peter Schmidt
aus
Kiel

1968

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Zum Stoffwechsel von Aminotriazol beim Menschen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Hans-Peter Schmidt

aus

Kiel

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Zum Stoffwechsel
von Ammoniak beim Menschen



Dekan: Prof. Dr.E. Wetterer

Referent: Priv.-Doz.Dr.Dr.M.Geldmacher-v.Mallinckrodt

Koreferent: Prof.Dr.Dr.E.Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 31. 7. 1968

Hans-Peter Schmidt

A. <u>EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG</u>	3
B. <u>ÜBERBLICK ÜBER DIE LITERATUR</u>	3
I. Geschichte des 3-Amino-1,2,4-Triazols (ATA)	3
II. Anwendung des ATA	4
III. Handelspräparate	4
IV. Chemische und physikalische Eigenschaften	5
V. Toxische Eigenschaften	6
1. Allgemeine Toxizität	6
2. Wirkung auf die Schilddrüse	6
3. Wirkung auf die Thyroid-Katalase	6
4. Wirkung auf die Thyroid-Peroxydase	8
5. Wirkung auf die Leber- und Nieren-Katalase	8
6. Wirkung auf die Leber-Peroxydase	8
7. Wirkung auf die δ -Aminolävulinsäure-Dehydrase der Leber	8
VI. Hemmung der Karzinogenese durch ATA	9
VII. Verlängerung der Überlebenszeit nach Röntgenbe- strahlung durch ATA	9
VIII. Stoffwechsel des ATA im pflanzlichen Organismus	10
IX. Stoffwechsel des ATA im Säugetierorganismus	11
X. Gefährdung des Menschen durch ATA	13
XI. Analytik	14
1. Biologischer Test	14
2. Nachweismethoden	15
3. Quantitative Bestimmung	16
C. <u>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</u>	17
I. Ausarbeitung der Methodik (Zusatzversuche)	17
1. Quantitative Bestimmung von ATA im Harn mittels Ionenaustauscher (MERCK, stark sauer)	17
a. Vorbereitung der Säule	17
b. Quantitative Bestimmung	18
2. Quantitative Bestimmung von ATA im Harn nach papierchromatographischer Abtrennung	20

	Seite
II. Anwendung auf menschlichen Harn nach Aufnahme von ATA	23
1. Qualitativer Nachweis	23
a. Dünnschichtchromatographisch	23
b. Papierchromatographisch	24
2. Quantitative Bestimmung des ATA nach papierchromatographischer Abtrennung	24
3. Isolierung und Identifizierung des ATA	24
a. Spektralanalytische Bestimmung	24
b. Schmelzpunktbestimmung	25
4. Untersuchung auf Metaboliten des ATA im Harn	26
5. Untersuchung auf Konjugate des ATA	27
 D. <u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	 27
 E. <u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	 29

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Herbicide, darunter Aminotriazol (ATA), sind biologisch hochwirksame Stoffe, die zur Bekämpfung unerwünschten Pflanzenwuchses in zunehmenden Maße angewendet werden. Durch ihre weite Verbreitung und leichte Zugänglichkeit häuften sich in den vergangenen Jahren Fälle mit bewußt mißbrä^uchlicher oder fahrlässiger Anwendung.

Über die Folgen einer Aufnahme von ATA beim Menschen war bisher nichts bekannt, ebenso wenig über seinen Stoffwechsel sowie die Ausscheidungswege.

Wir konnten die Krankengeschichte einer 39-jährigen Frau verfolgen, die in suicidalen Absicht eine unbekannte Menge des herbicidwirksamen Mittels "USTINEX PA" (Bayer) eingenommen hatte. Das Präparat enthält als Wirkstoffe DIURON und AMINOTRIAZOL. Ausserdem stand uns Urin zur Untersuchung zur Verfügung.

Im folgenden soll über die Isolierung des ATA aus dem Harn, dessen Nachweis und quantitative Bestimmung sowie den Stoffwechsel beim Menschen anhand des geschilderten Falles berichtet werden.

B. ÜBERBLICK ÜBER DIE LITERATUR

I. Geschichte des Aminotriazols (ATA)

Aminotriazol ist 3-Amino-1, 2, 4-Triazol. 1955 beobachtete ALLEN die biologische Wirksamkeit der schon 1888 von CURTIUS und LANG synthetisierten Verbindung, die als herbicidwirksam durch das U.S. Patent 2,670,282 geschützt wird. Zwei Jahre später erfolgte die Registrierung als Herbizid durch das U.S. Department of Agriculture. In das Pflanzenschutzmittelverzeichnis der BRD wurde es 1959 aufgenommen. Es gehört der Giftklasse 3 an.

II. Anwendung des ATA

Das ATA rechnet KURTH (1960) zu der Gruppe der total oder allgemein wirkenden Herbizide. Es hemmt oder blockiert zahlreiche Enzyme und stört die Chlorophyllbildung. Wegen seines breiten Wirkungsspektrums wird es, zum Teil in Kombination mit anderen Herbiziden, in Form von Sprüh-, Giess- und Stäubemittel angewendet. Die sicher und anhaltende phytotoxische Wirksamkeit wird unter anderem im Gartenbau, Ackerbau, in Obstplantagen und Weinbergen, auf Militär- und Industrieanlagen und im Gleis- und Straßenbau genutzt.

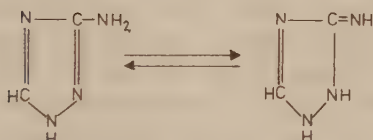
III. Handelspräparate

Im Handel ist ATA erhältlich unter den geschützten Namen AMIZOL (American Chem.Paint Co., Ambler/Pa), im Gemisch mit Ammoniumthiocyanat als CYTROL amitrol-T, AMITROL-T und WEEDAZOL-TL. (Amchem Products, Inc.), in Kombination mit Simazin als DOMATOL, VOROX, UNKRAUTVERTILGER SPIESS-URANIA, mit Simazin und MCPA als DOMATOL spezial W, als VOROX S mit Atrazin, Simazin und Propazin und als VOROX 1 630 im Gemisch mit Atrazin, Simazin, Propazin und 2, 4-D. Hersteller: Pflanzenschutz, Spiess, Spiess-Urania. Weitere Kombinationspräparate sind USTINEX PA (mit Diuron), USTINEX GI (mit Diuron und Bromacil), USTINEX GL (mit Diuron, Bromacil und 2, 4-D.), UNKRAUTVERNICHTER 2374 A (mit TCA-Natrium und 2, 4-D-Natrium), UNKRAUTVERNICHTER 4723 Bayer (mit 2, 4-D und TCA) und AMINOTRIAZOL-SPRITZPULVER - Bayer. Hersteller: Bayer-Leverkusen. Andere Handelsnamen lauten: WEEDEX, WEEDAZOL D und AMIZINE. (Hersteller: amerikanische und englische Firmen)

IV. Chemische und physikalische Eigenschaften

Reines ATA kristallisiert in schwach gelblichen Nadeln von bitterem Geschmack.

Es tritt in zwei desmotropen Formen auf, die im gegenseitigen Gleichgewicht stehen.



3-Amino-1, 2, 4-Triazol

1, 2, 4-Triazol-3-imid

Schmelzpunkt:

154,2 - 155,3° C

Molekulargewicht:

84,08

Löslichkeit:

in 100 ml Wasser: 28 g bei 23° C

50 g bei 53° C

in 100 ml Äthanol: 26 g bei 75° C

Eine geringere Löslichkeit hat es in Chloroform, Methylenchlorid und Acetonitril.

Durch zweistündiges Erhitzen auf 95° C - 100° C wird es nicht zerstört.

Aufgrund seiner basischen Eigenschaften verbindet es sich mit Säuren zu Salzen, mit vielen zwei- und dreiwertigen Metallen bildet es stabile chelatartige Komplexe.

Wegen seiner stark polaren Eigenschaften kann es mit Ionenaustauschern aus Lösungen isoliert werden.

Lösungen des ATA zeigen im sichtbaren als auch im UV-Bereich zwischen 200 und 650 nm kein Absorptionsmaximum. ATA ist bei vermindertem Druck unzersetzt sublimierbar.

V. Toxische Eigenschaften

1. Allgemeine Toxizität

Hinweise für eine stark toxische Wirkung des ATA nach i.v.-Anwendung bei Mäusen (1,6 g/kg) und Katzen (1,72 g/kg) und nach einmaliger intraperitonealer Injektion von 4 g/kg Maus wurden von SHAFFER (1956) nicht festgestellt. Keine Vergiftungserscheinungen traten auf nach i.v.-Injektion von 1,2 g/kg beim Hund, die LD₅₀ für Mäuse beträgt 14,7 g/kg (WEIR, PAYNTER und ELSERA 1958), für Ratten 25 g/kg (DURHAM 1961). Einige Schafe dagegen starben schon nach peroraler Gabe von 2 g/kg (HAPKE 1965). Nach Auftragung von 10 g/kg auf die Haut von Kaninchen traten keine Vergiftungserscheinungen auf (KLIMMER 1964). Es liegen Hinweise vor, daß viele Fische hohe Dosen von Amitrole und Amitrol-T tolerieren (STERRY).

2. Wirkung auf die Schilddrüse

Versuche an Ratten mit J¹³¹ zeigen die antithyroide Wirkung des ATA. Ähnlich der Wirkung des Thiouracils wird vom ATA die Aufnahme des im Plasma vorliegenden Jods und dessen Überführung in organische Form unter Bildung des Schilddrüsenhormons unterdrückt (ALEXANDER 1959b, JUKES und SHAFFER 1960).

Die stark antithyroide Wirkung des ATA wurde im chronischen Toxizitätsversuch bestätigt. Bei einem Grenzwert von 50 p.p.m. ATA im Futter kann eine deutliche Kropfbildung bei Ratten nachgewiesen werden (EGGERT 1959). Bei Gaben von 100 und 500 pp.m. 3-ATA in der Nahrung war bei Ratten neben Wachstumsverzögerung, Kropfbildung und veränderter Nahrungsverwertungsverhältnisse eine ausgeprägte Exophthalmusbildung besonders

auffällig. Zwei Wochen nach Absetzen des ATA hatten sich die registrierten Veränderungen völlig zurückgebildet (WEIR, PAYNTER und ELSERA 1958).

Der subakute Toxiditätsversuch über eine Dauer von 63 Tagen mit 1000 und 10.000 p.p.m. ATA im Futter bewirkte bei Ratten eine Wachstumsverzögerung und eine fettige Degeneration der Leberzellen (EGGERT 1959). Bei einigen Ratten, die innerhalb von 14 Monaten täglich mit 100 p.p.m. ATA gefüttert wurden, zeigten sich Schilddrüsenveränderungen, die von einigen Pathologen als adenocarcinomatös, von anderen als nicht maligne interpretiert wurden (JUKES und SHAFER 1960).

Bei Schafen, denen über eine Versuchsdauer von 2 Monaten im Abstand von 5-7 Tagen 10 mal ATA-Spritzbrühe (10%-ige wässrige Lösung) peroral in einer Dosis von 0,75 g/kg bzw. 1,0 g/kg appliziert wurde, konnten deutliche Schilddrüsenveränderungen nachgewiesen werden. Das histologische Bild zeigte ein hochgradig verändertes, z.T. adenomatös proliferierendes Follikel-epithel. Das normalerweise kubische Follikel-epithel war durch mehrschichtiges Zylinderepithel ersetzt worden. Die Kolloidbildung sistierte nahezu vollständig (HAPKE, RUSSEL, UEBER-SCHÄR 1965).

3. Wirkung auf die Thyroid-Katalase

Diese Untersuchungen wurden von ALEXANDER (1959b) an Ratten durchgeführt. Nach Injektion von 1 mg ATA blieb die Aktivität im Vergleich mit der der Kontrolltiere unverändert, nach Applikation von 50 mg trat jedoch eine Senkung der Katalase-Aktivität um etwa 50 % auf. ALEXANDER vermutet keinen Zusammenhang zwischen der reduzierenden Wirkung auf die Katalase-Aktivität und der antithyroiden Wirkung, da kleine Mengen ATA zwar die Jodaufnahme bremsen, die Katalase-Aktivität jedoch nicht beeinflussen.

4. Wirkung auf die Thyroid-Peroxydase

Das ATA hemmt auch die Aktivität der Thyroid-Peroxydase. Die reduzierte Peroxydase-Aktivität behindert die Jodaufnahme für die Synthese des Mono- und Dijodthyrosins. Dies konnte ALEXANDER (1959a) an Schilddrüsen-Homogenaten von Ratten nachweisen. ALEXANDER vermutet, daß dies die eigentliche Ursache für die pathologischen Veränderungen an der Schilddrüse sei.

5. Wirkung auf die Leber- und Nieren-Katalase

1955 wurde erstmals die Wirkung des ATA auf die Aktivität der Leber- und Nieren-Katalase bei Ratten untersucht. Drei Stunden nach intraperitonealer Injektion einer wässrigen Lösung (Gesamtdosis 1g/kg) konnte eine deutliche, aber reversible Hemmwirkung auf die Aktivität festgestellt werden. Das Hämoglobin und die Aktivität der Blutkatalase blieben unbeeinflusst (HEIM, APPELMANN, PYFROM 1955). Diese Ergebnisse wurden 1958 durch ALEXANDER (1959b) bestätigt. Darüber hinaus registrierten FEINSTEIN, BERLINER und GREEN (1958) unter ATA-Wirkung eine Reduktion der Katalase-Aktivität im Eingeweidetrakt, in den Testes, der Milz und im Gehirn.

6. Wirkung auf die Leber-Peroxydase

Eine geringe Senkung der Peroxydase-Aktivität tritt bei der Ratte 3 Stunden nach ATA-Injektion in einer Dosis von 1 g/kg ein, erreicht aber schon nach 24 Stunden wieder Normalwerte (HEIM, APPELMANN und PYFROM, 1956).

7. Wirkung auf die δ -Aminolävulinsäure-Dehydrase der Leber

Die δ -Aminolävulinsäure-Dehydrase ist an der Porphyrinsynthese beteiligt. Die Kondensation zweier Moleküle δ -Aminolävulinsäure zu Porphobilinogen wird durch dieses Enzym katalysiert (SHEMIN 1953, GIBSON 1955). Die Aktivität dieses Enzyms

als auch die der porphyrinhaltigen Katalase ist in der Leber von Tieren, die einen Tumor tragen, reduziert. Nach intraperitonealer Injektion von 3-ATA (1000 mg/kg) konnte bei Mäusen eine deutliche Hemmwirkung auf die δ -Aminolävulinsäure-Dehydrase innerhalb von 3-4 Stunden nach der Applikation beobachtet werden (TSCHUDY und COLLINS 1957).

VI. Hemmung der Karzinogenese durch ATA

Nach Versuchen mit Ratten konnte HOSHINO (1960) feststellen, daß bei Applikation von ATA die Entstehung eines Leberkrebses durch 4-Dimethylaminoazobenzol signifikant gehemmt wird. Der Mechanismus ist ungeklärt.

VII. Verlängerung der Überlebenszeit nach Röntgenbestrahlung durch ATA

FRIEDBERG (1956) warf die Frage auf, ob bei Ratten durch Konzentrationsenkung der Leber- und Nieren-Katalase mittels ATA eine Sensibilitätserhöhung gegenüber einer tödlichen Dosis Röntgenstrahlen auftreten würde.

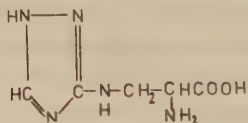
Durch Injektion von 1 g/kg ATA wurde die Konzentration der Katalase auf 3 % der Normalwerte gesenkt. Im Vergleich mit Kontrolltieren zeigte sich nach Bestrahlung mit 934 r keine Erhöhung der Letalität, sondern eine deutliche Verlängerung der Überlebenszeit.

Die Applikation von 2 g/kg ATA schützte einen hohen Prozentsatz Mäuse gegen eine Dosis von 650 r und verlängerte die Überlebenszeit nach Bestrahlung mit 750 r und 850 r signifikant. Keine Beeinflussung durch ATA ist bei Applikation von 1700 r möglich und auch dann nicht, wenn das ATA nach der Bestrahlung injiziert wird (FEINSTEIN und BERLINER 1957).

VIII. Stoffwechsel des ATA im pflanzlichen Organismus

Die Umwandlung des ATA im pflanzlichen Organismus ist intensiv untersucht worden. RACUSEN (1958) isolierte aus Bohnenblättern zwei Metaboliten X und Y, deren Toxizität gegenüber *Lemna minor* untersucht wurden. Der X-Metabolit zeigte eine geringere Toxizität als unverändertes ATA, während der Y-Metabolit keine phytotoxische Wirksamkeit zu haben scheint. Farbreaktionen nach Diazotierung und mit p-Dimethylaminobenzaldehyd lassen vermuten, daß weder die Amino-Gruppe noch das Ringsystem des ATA verändert worden sind.

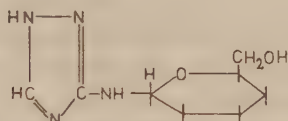
Eine 3-Amino-1, 2, 4-triazolyl-alanin-Verbindung isolierte MASSINI (1959) aus jungen Bohnenpflanzen. Das Stoffwechselprodukt soll folgende Formel haben:



Komplexverbindungen des ATA mit Glycin und Serin fanden CARTER und NAYLOR (1959) in *Phaseolus vulgaris*. In Baumwoll-Saat fanden MILLER und HALL (1961) zwei nicht identifizierte, wasserlösliche Metaboliten. Mit zweidimensionaler Dünnschichtchromatographie konnten CARTER und NAYLOR (1960) mindestens 12 Stoffwechselprodukte aus Bohnenpflanzen isolieren, darunter ein von ROGERS (1957b) und RACUSEN (1958)

beschriebenes Stoffwechselprodukt, das FREDERICK und GENTILE (1960b, 1961) spektralanalytisch als D-Glucose-3-ATA-addukt identifizierten.

Das Stoffwechselprodukt hat folgende Formel:



Über einen unbekannten Metaboliten III aus *Cirsium arvense* L., der phytotoxisch stärker wirkt als ATA, berichten HERRET und BARGLEY (1964). Ein relativ stabiles Glycin-3-Amino-1, 2, 4-Triazol-derivat isolierte NAYLOR aus Bohnen (1964).

IX. Stoffwechsel des ATA im Säugetierorganismus

Über den Stoffwechsel des ATA im Säugetierkörper ist wenig bekannt.

FANG, GEORGE und TE CHANG YU (1964) verfütterten radioaktives 3-Amino-1, 2, 4-Triazol-5- C^{14} an Ratten in einer Menge von 1 mg je Ratte. Die schnelle Abnahme der Radioaktivität im Gastro-Intestinal-Trakt nach oraler Applikation läßt darauf schließen, daß ATA hier nahezu vollständig resorbiert wird. Nach der Resorption verteilt es sich in unterschiedlicher Konzentration auf alle Organe. Nur sehr kleine Spuren von C^{14} konnten innerhalb von 72 Stunden nach der Applikation in der Atemluft registriert werden. Offensichtlich wird ATA nur in sehr geringem Maße im Organismus oxydiert.

Die Radioaktivität erreichte in allen Organen höchste Werte innerhalb von einer Stunde und fiel 3-4 Stunden nach der Applikation wieder ab. Nach 24 Stunden waren, mit Ausnahme in der Leber, keine Aktivitäten mehr zu messen. Von allen Organen erhielt die Leber eine Stunde nach Verfütterung die höchste Radioaktivität, die nächsthöchste Konzentration lag in der Niere vor.

Nach chromatographischer Auftrennung des Leber-Äthanol-Extraktes fand man einen Metaboliten I, dessen Konzentration mit der Zeit anstieg. In geringer Menge war dieser Metabolit auch in den Faeces vorhanden.

Die Ausscheidung des ATA erfolgt über die Nieren.

Während der ersten 24 Stunden wurden 70-95 % der Radioaktivität im Urin gemessen. Neben unverändertem ATA ließen sich zwei Metaboliten I und II nachweisen. Diese werden viel langsamer aus Leber und Nieren ausgeschieden als unverändertes ATA. Die Frage, ob es sich bei dem Metaboliten I um einen ATA-Katalase-Komplex handelt, ist ungeklärt. Markiertes ATA wurde an erwachsene Ratten verfüttert und das Ausscheidungsmuster, die Organanreicherung von C^{14} und die Metabolitenausscheidung im Urin bestimmt.

Nach Verfütterung von ATA in variierenden Mengen von 1 mg bis 200 mg je Ratte war kein signifikanter Unterschied in der prozentualen Ausbeute an radioaktiven Verbindungen in Urin und Faeces, in Relation zur verfütterten Dosis, erkennbar, wohl aber in dem Ausmaß der Metabolitenbildung. Mit dem Anstieg des oral applizierten ATA verringerte sich die Menge der Metaboliten. Nach Verabreichung von mehr als 10 mg ATA je Tier konnten im 24-Stunden Sammelurin keine Stoffwechselprodukte nachgewiesen werden. Offensichtlich haben Ratten nur eine begrenzte Fähigkeit, das ATA-Molekül zu verändern.

Um das Wesen des ATA-Stoffwechsels näher zu klären, wurde eine Mischung von ATA- H^3 und ATA- $5-C^{14}$ verfüttert. Das veränderte H^3/C^{14} - Verhältnis bei den Metaboliten im Ratten-Urin weist auf eine Substitution des 5-H-Atoms des Ringes hin. Eines der H-Atome der Aminogruppe war wahrscheinlich auch substituiert worden. Um den Stoffwechsel von markierten pflanzlichen Metaboliten im Säugetierorganismus zu untersuchen, wurden Metaboliten I und III an Ratten verfüttert. Nach papierchromatographischer Auftrennung zeigte es sich, daß aus dem Metaboliten I zum Teil neue Stoffwechselprodukte gebildet worden waren, eine Umwandlung zu ATA fand jedoch nicht statt. Die Ausscheidungsraten für die Metaboliten I und III unterschieden sich wesentlich (FANG, KHANNA und RAO 1966).

X. Gefährdung des Menschen durch ATA

Die Aufnahme von Rückständen geringer Mengen herbicider Substanzen mit Nahrungsmitteln wird mit Beunruhigung beobachtet.

Aufgrund der goitrogenen Wirkung des ATA und seiner Metaboliten und des Verdachtes, daß es präcanceröse Veränderungen induziere, wurde vom U.S. Secretary of Health, Education and Welfare die Toleranzgrenze für Restmengen des ATA in Nahrungsmitteln auf 0 p.p.m. festgesetzt. (DU SHANE 1959, DURHAM 1961, OSER 1962). Mit den heute angewendeten Bestimmungsmethoden wird jedoch nur unverändertes ATA erfaßt, während die toxikologisch unter Umständen gefährlicheren Metaboliten unberücksichtigt bleiben.

Auf der Suche nach einer neuen Substanz zur Therapie der Hyperthyreose wurde an Versuchspersonen mit normaler und thyreotoxischer Schilddrüse 100 mg ATA als Einzeldosis peroral verabreicht. Dadurch wurde die Radiojodaufnahme für 24 Stunden gebremst. Bei Applikation von 10 mg trat nur ein geringfügiger Effekt auf (ASTWOOD 1960). Durch eine kontinuierliche Aufnahme relativ geringer Mengen von ATA könnte also im Laufe der Zeit

eine Stoffwechselerlangsamung eintreten.

HAPKE, RÜSSEL und ÜBERSCHÄR (1965) weisen darauf hin, daß durch die großflächige Anwendung von ATA Haus- und Wildtiere diese Substanz in grösserer Menge aufnehmen können. Da besonders Wiederkäuer das ATA wegen des alkalischen Geschmacks bevorzugen, könnte auch der Mensch durch die Aufnahme von Fleisch und Milch ATA in unkontrollierbarer Menge aufnehmen. Als Beweis für die Hypothese verfütterten sie an Schafe über eine Versuchsdauer von 2 Monaten im Abstand von 5-7 Tagen 10 mal ATA-Spritzbrühe (10 %ige wässrige Lösung) per os in einer Dosis von 0,74 g/kg bzw. 1,0 g/kg.

Drei Tage nach der letzten Applikation konnten in Muskelfleischextrakten nach semi-quantitativer Bestimmung 80 ± 30 bzw. 120 ± 40 p.p.m. ATA nachgewiesen werden.

GOLZ weist darauf hin, daß bei Personen, die entsprechend den Richtlinien mit ATA arbeiten, wegen der geringen Toxizität des ATA praktisch keine akuten Vergiftungserscheinungen auftreten könnten, es sei denn, ATA würde in suicidalen Absicht eingenommen werden. Mit einer eventuellen Funktionsstörung der Schilddrüse könne man nur dann rechnen, wenn über die Dauer von Jahren täglich ATA aufgenommen werden würde.

Die Krankengeschichte unseres Falles, bei dem in suicidalen Absicht eine unbekannte Menge des Herbicides USTINEX PA (Bayer) aufgenommen wurde, zeigte keine besondere Symptomatik. Es sind keine Vergiftungserscheinungen aufgetreten. Im Harn ist weder Zucker noch Eiweiß festgestellt worden, die Transaminasenwerte lagen im Bereich der Norm.

XI. Analytik

1. Biologischer Test

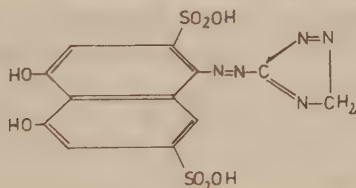
GOWING (1959) beschreibt ein auf Wachstumshemmung von Soja- und Sonnenblumensamen beruhendes Verfahren, einen auf viele Herbizidklassen anwendbaren biologischen Test unter Verwendung

von Kressesamen (*Lepidium sativum*) entwickelten GELDMACHER-v. MALLINCKRODT und BREITENLOHNER (1966).

2. Nachweismethoden

a. Papierchromatographisch

GREEN und FEINSTEIN (1957) entwickelten das Chromatogramm aufsteigend in dem Laufmittelsystem Isopropanol/Ammoniak (28 %)/Wasser 80/10/10. Die Detektion erfolgt, indem man das getrocknete Chromatogramm unter jedesmaligen Zwischen-trocknen nacheinander mit 0,3N-HCL, 0,5 M NaNO_2 -Lösung und einer 0,0025 M Lösung von Chromotropsäure besprüht. Das ATA erscheint als rotbrauner Fleck, die Nachweisgrenze liegt bei 0,2 μg . Der Farbstoff soll folgende Formel haben:



RACUSEN (1958) entwickelt seine Chromatogramme aufsteigend auf Whatman No.1 Papier und gibt als verwendbare Laufmittelsysteme an:

		ATA
Methanol/Ameisensäure/Wasser	80/15/5	(Rf. = 0,60)
Isopropanol/Ammoniak/Wasser	6/2/2	(Rf. = 0,75)
n-Butanol/Essigsäure/Wasser	27/7/17	(Rf. = 0,55)
80%iges Pyridin		(Rf. = 0,72)
80%iges Phenol		(Rf. = 0,78)

Die Detektion auf dem getrockneten Chromatogramm erfolgt mit einer 1 %igen NaNO_2 -Lösung in 80%igem Aceton und einer 20%igen acetonischen HCL. Nach 10 Minuten wird mit einer 0,25%igen Lösung des Dinatriumsalzes der H-Säure in 50%igem Aceton besprüht. Das ATA erscheint als kräftig roter Fleck, die Nachweisgrenze liegt bei 1 - 2 μg .

MITCHELL (1960) entwickelt das Chromatogramm aufsteigend auf Papier Whatman No. 1,8 x 8" Papier und verwendet das Laufmittelsystem p-Dioxan/Wasser = 80/20. Nach einer Laufzeit von etwa 3 Stunden erfolgt die Detektion, indem mit einer ammoniakalischen Silbernitrat-Lösung in Äthanol besprüht und anschliessend 15 Minuten lang auf 130° erhitzt wird. Die Nachweisgrenze liegt bei 0,5 μg .

Ebenfalls aufsteigend auf Papier Whatman No. 1 entwickeln ALDRICH und Mc LANE (1957) das Chromatogramm und geben Äthanol/Wasser/n-Butanol = 1/1/4 als geeignetes Laufmittelsystem an. Die Detektion erfolgt mit einer 5%igen KNO_2 -Lösung und anschliessend noch feucht mit einer gesättigten Lösung von Phenol in 20%iger HCL. Das ATA wird als gelber Fleck nachgewiesen, die Nachweisgrenze liegt bei 1 μg .

b. Dünnschichtchromatographisch

HAPKE, RÜSSEL und UEBERSCHÄR (1965) entwickeln auf Kieselgel-Dünnschichtplatten (Kieselgel G der Fa. Merck mit 0,25 mm Schichtdicke). Als Laufmittelsystem dient ein Gemisch von Isopropanol/konz. Ammoniak/Wasser = 80/10/10. Die Detektion erfolgt mit einer 10%igen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in Eisessig. Das ATA erscheint als gelber Fleck bei $R_f = 0,73$. Die Nachweisgrenze liegt bei 0,5 μg .

3. Quantitative Bestimmung

SUTHERLAND (1964) nennt eine titrimetrische Methode zur Bestimmung des ATA in Zubereitungen.

SUND (1956) verwertet die mit Nitrosopentacyanoferraten auftretende Grünfärbung des ATA.

Wesentlich empfindlicher sind kolorimetrische Verfahren mit Diazotierung des ATA und anschliessender Kuppelung zu Farbstoffen. Als Kupplungskomponenten werden die Chromotropsäure (GREEN und FEINSTEIN, 1957), die H-Säure (HERRET und LINK, 1961a) und das N- (1-Naphthyl)-äthylen-diamin (STORHERR und BURKE, 1961) verwendet. Geeignete Farbstoffe für die kolorimetrische Bestimmung erhält man auch mit β -Naphthylamin, N-Äthyl-N-benzyl-anilin-3-sulfonsäure, 8-Amino-1-naphthol-5,7-disulfonsäure, 2-Naphthol-3,6,-disulfonsäure und Phenol (vgl. KRÖLLER, 1966).

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Ausarbeitung der Methodik (Zusatzversuche)

1. Quantitative Bestimmung von ATA im Harn mittels Ionenaustauscher MERCK, stark sauer.

KRÖLLER (1961) nennt eine Methode zur Restmengenbestimmung von ATA in Pflanzen durch Anwendung von Ionenaustauschern. Zunächst versuchten wir, in Abwandlung dieses Verfahrens das ATA im Harn zu bestimmen.

a. Vorbereitung der Säule

In ein mit Watte verschlossenes Chromatographierrohr (Länge 650 mm, Durchmesser 20 mm) schichtet man 8 cm hoch mit Wasser stark vorgequollenes stark saures Ionenaustauscherharz. Aktiviert wird, indem man mit gleichbleibender Geschwindigkeit (10 ml/min) nacheinander 200 ml 5-N-Salzsäure, 150 ml Wasser, 200 ml 2-N Ammoniak und wieder 150 ml Wasser durch die Säule laufen läßt. Anschliessend gibt man 200 ml 5-N Salzsäure und 200 ml Wasser durch die Säule.

10 ml Harn wurden mit 10 mg ATA versetzt und durch die aktivierte Austauschersäule gegeben. Anschliessend wurde mit 200 ml

Wasser nachgespült. Das am Austauscher festgehaltene ATA wurde mit 100 ml 2-N Ammoniak und 100 ml Wasser ausgewaschen, das Eluat anschließend auf dem Wasserbad auf ungefähr 20 ml eingengt.

Dann ließen wir das Eluat zur Eliminierung von Harnsalzen und Harnfarbstoffen durch eine 8 cm hohe Schicht (Rohrdurchmesser 20 mm) von aktivem sauren Aluminiumoxyd (Woelm) laufen. Beschleunigt wurde die Durchlaufgeschwindigkeit durch Verwendung einer Wasserstrahlpumpe. Mit 50 ml Wasser wurde nachgespült. Das Perkolat, das möglichst wasserklar sein soll, wurde im Wasserbad vollständig eingedampft, zur Reinigung mit Alkohol aufgenommen und filtriert. Nach Eindampfen des Filtrates wurde mit Aqua dest. auf 10 ml aufgefüllt.

b. Quantitative Bestimmung

0,01 ml bis 0,08 ml dieser Lösung wurden auf 2 ml mit Aqua dest. aufgefüllt und nach dem Verfahren von GREEN und FEILNSTEIN in der von KRÖLLER angegebenen Weise quantitativ bestimmt.

Vorversuche hatte gezeigt, daß die Entwicklung der Farb-reaktion zur quantitativen Bestimmung wässriger ATA-haltiger Lösungen nach Zusatz von Harnstoff stark gehemmt wurde.

Nach Zerstörung des Harnstoffs mit Urease vor Anwendung des Ionenaustauschers können mit dieser Methode etwa 70 % des vorliegenden ATA erfaßt werden. Ohne vorherige Zerstörung des Harnstoffes fallen die Werte von 67 % auf 57% ab. (Vergleiche Abb. 1 und 2)

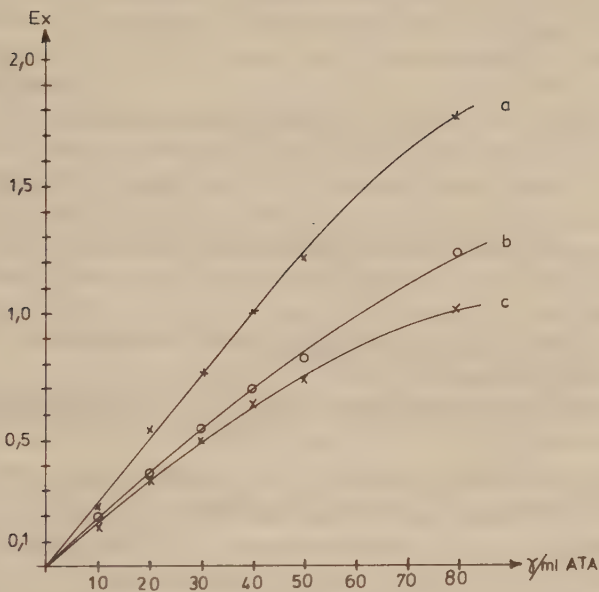


Abb.1: Quantitative Bestimmung von ATA nach GREEN und FEINSTEIN

a: Eichkurve

b: Zusatzversuche mit Harn nach Zerstörung des Harnstoffes

c: Zusatzversuche mit Harn ohne Zerstörung des Harnstoffes

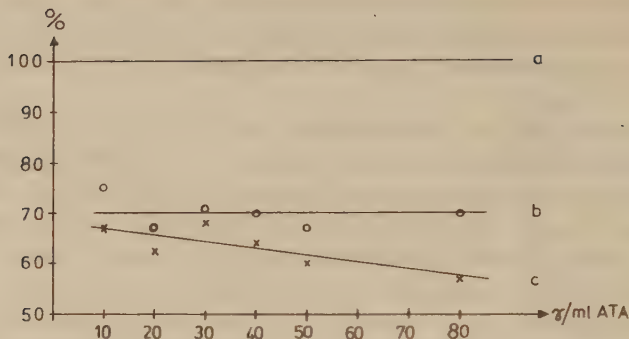


Abb. 2: Quantitative Bestimmung von ATA; Angabe der wiedergefundenen Menge in Prozent
a: Eichkurve
b: Zusatzversuche mit Harn nach Zerstörung des Harnstoffes
c: Zusatzversuche mit Harn ohne Zerstörung des Harnstoffes.

Da das ATA nach Zusatzversuchen bei Anwendung dieser Methode nur zu 70 % erfaßt werden kann und außerdem grössere Mengen Harn notwendig sind, entwickelten wir ein papierchromatographisches quantitatives Bestimmungsverfahren, mit dem auch beim Vorliegen sehr geringer Harnmengen ATA mit großer Genauigkeit bestimmt werden kann.

2. Quantitative Bestimmung von Aminotriazol im Harn nach papierchromatographischer Abtrennung

Bei diesem Verfahren kann der ATA-haltige Harn direkt auf das Papier aufgetragen werden.

Nach Entwicklung des Chromatogramms in n-Butanol, gesättigt mit 5n NH_3 (ALGERI und WALKER, 1952) wird zur Markierung des ATA ein Leitstreifen mit einer 10 %igen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in Eisessig angefärbt. Das ATA erscheint als gelber Fleck bei R_f : 0,4, der Harnstoff schwächer gelb gefärbt bei R_f : 0,45.

Nach Lagebestimmung wird eine aminotriazolhaltige Zone ausgeschnitten. Dabei ist darauf zu achten, daß kein Harnstoff mitherausgelöst werden kann. Dann wird nacheinander für die Dauer von je 20 Minuten mit zweimal 2 ml Aqua dest. eluiert. Die quantitative Bestimmung erfolgt nach KRÖLLER:

Die 4 ml Analysenlösung versetzt man unter jeweiligem Schütteln nacheinander mit 6 ml 1n-Salzsäure und 0,4 ml 0,01 m Natriumnitritlösung. Im Wasserbad wird genau 15 Minuten lang auf 50°C erwärmt, anschliessend sofort in kaltem Wasser gekühlt. Nach Zugabe von 3 ml Chromotropsäurelösung (100 mg Na-Salz/250 ml Wasser) wird anschliessend in kochendem Wasserbad genau 2 1/2 Minuten erhitzt, dann in Eiswasser auf Raumtemperatur abgekühlt. Darauf wird zur Farbstabilisierung 1 ml einer 2%igen Ascorbinsäurelösung zugesetzt. In einem Photometer (ZEISS OPTON M₄) mißt man in einer 1 cm Küvette bei 505 nm die Extinktion gegen einen gleichartig, mit 4 ml Wasser angesetzten Leerwert. Der ATA-Gehalt kann durch Vergleich mit einer Eichkurve ermittelt werden.

Nach den Ergebnissen von Zusatzversuchen können bei Konzentrationen von 10 γ - 50 γ ATA/ml mit diesem Verfahren 100 % bis 87 % des aufgetragenen ATA quantitativ erfaßt werden. Bei Konzentration von 50 γ bis 80 γ ATA/ml liegen die Werte zwischen 87 % und 70 %.

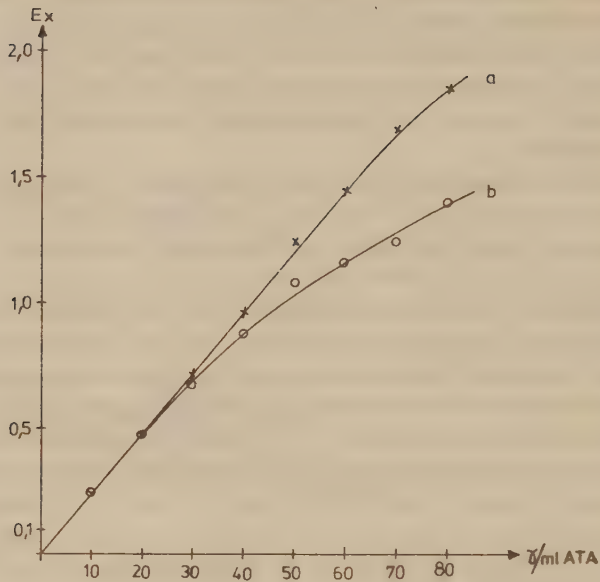


Abb.3: Quantitative Bestimmung von ATA im Harn nach papierchromatographischer Abtrennung.

Ordinate: Extinktion bei 505 nm, gemessen im ZEISS OPTON M₄.

Abszisse: Konzentration von ATA in g/ml.

a: Eichkurve

b: Zusatzversuche mit Harn

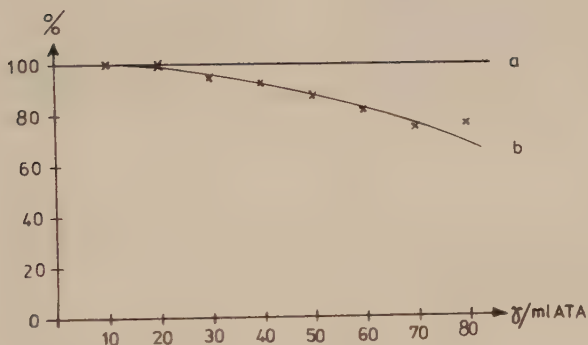


Abb.4:Quantitative Bestimmung von ATA im Harn nach papierchromatographischer Abtrennung. Angabe der wiedergefundenen Menge in Prozent.

a: Eichkurve

b: Zusatzversuche mit Harn.

II. Anwendung auf menschlichen Harn nach Aufnahme von ATA

1. Qualitativer Nachweis

a. Dünnschichtchromatographisch (HAPKE, RÜSSEL, UEBERSCHÄR, 1965)

0,05 ml Harn wurden direkt aufgetragen. Die Laufzeit betrug ungefähr 3 Stunden. Das ATA erschien als gelber Fleck mit R_f : 0,64. Der Wert stimmte mit dem der Vergleichssubstanz (ATA, techn. 96 %) überein.

b. Papierchromatographisch

0,05 ml Harn wurden direkt aufgetragen (Papier Nr. 2043 b Mgl., C. Schleicher und Schüll, Dassel). Wir entwickelten das Chromatogramm aufsteigend und verwendeten als Laufmittelsystem n-Butanol/5 n NH_3 (ALGERI und WALKER, 1952). Die Laufzeit betrug etwa 14 Stunden. Die Detektion des getrockneten Chromatogramms erfolgte mit H-Säure (RACUSEN). Das ATA erschien als kräftig roter Fleck bei R_f : 0,4. Der R_f -Wert stimmte mit dem der Vergleichssubstanz (ATA, techn. 96 %) überein.

2. Quantitative Bestimmung des ATA nach papierchromatographischer Abtrennung.

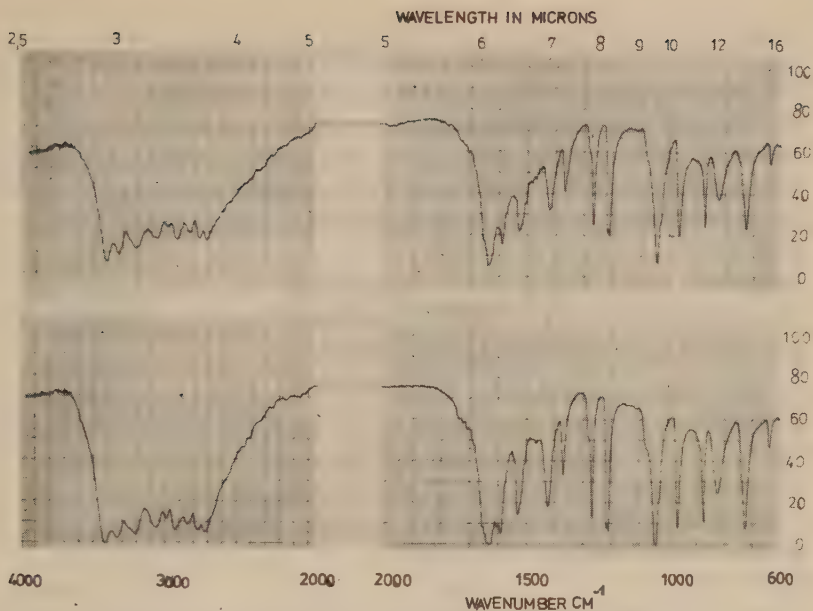
Die Konzentration im Harn des Patienten betrug 100 mg%.

3. Isolierung und Identifizierung des ATA

a. Spektralanalytische Bestimmung.

Hierzu wurden etwa 6 ml des Harns papierchromatographisch in n-Butanol, gesättigt mit 5n NH_3 , entwickelt. Nach Anfärbung eines Leitstreifens mit einer 10%igen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in Eisessig wurde die aminotriazolhaltige Zone mit Wasser eluiert. Das Eluat wurde im Wasserbad eingedampft, anschliessend zur Reinigung mit Äthanol aufgenommen, filtriert und erneut eingedampft.

Nach zweimaliger Vakuum-Sublimation des Rückstandes bei 135°C wurde von der kristallinen Fraktion (Entfernung vom Start 7 cm) ein IR-Spektrogramm angefertigt (Beckmann IR-8). Es zeigte die charakteristische starke NH Deformationsschwingung eines primären Amins bei 1642 cm^{-1} (6.09μ) und die verschiedenen aromatischen CH Absorptionsbanden (POTTS, 1961), und stimmte in allen Einzelheiten mit dem IR-Spektrogramm authentischen ATA's überein. Siehe Abb. Seite 25.



Ab.5: IR-spektrographische Identifizierung von ATA.

1. oberes Spektrum: ATA aus dem Harn des Patienten

2. unteres Spektrum: ATA-Reinsubstanz (techn.96%)

Gerät: BECKMANN, IR 8)

b. Schmelzpunktbestimmung

Ein Teil des Vakuum-Sublimates wurde zur Schmelzpunktbestimmung im KOFFLER-MIKRO-SCHMELZPUNKTAPPARAT verwendet.

Der Schmelzpunkt von ATA-Reinsubstanz betrug 162° C, der des ATA nach Isolierung aus dem Harn betrug ebenfalls 162° C. Der Mischschmelzpunkt zeigte keine Depression.

4. Untersuchung auf Metaboliten des ATA im Harn

Auf Stoffwechselprodukte des ATA im Harn wurde durch zweidimensionale Chromatographie in den Systemen nach BENSON und Mitarbeiter untersucht. Diese Autoren verwenden I. Phenol, wassergesättigt, II. n-Butanol-Wasser (1246:84) mit gleichem Volumen an Propionsäure-Wasser (620:730) vor dem Gebrauch gemischt.

Angefärbt wurde das Chromatogramm mit einer 10%igen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in Eisessig. Außer dem ATA zeigten sich 4 schwachgelbe Anfärbungen.

<u>Rf-Werte</u>	<u>Phenol</u>	<u>Butanol-Propionsäure</u>
ATA:	0,89	0,54
Fleck 1:	0,59	0,44
Fleck 2:	0,54	0,36
Fleck 3:	0,40	0,22
Fleck 4:	0,28	0,20

Der Harnstoff wurde anschliessend unter kräftiger Gelbfärbung mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in 6%iger HCL angefärbt.

<u>Rf-Werte</u>	<u>Phenol</u>	<u>Butanol-Propionsäure</u>
Harnstoff	0,77	0,48

Es konnte sich bei diesen 4 Flecken um Metaboliten des DIURON handeln, das mit dem Präparat USTINEX PA gleichzeitig aufgenommen worden war und gleichfalls mit EHRLICH-S-REAGENZ unter Gelbfärbung reagiert. Jedoch zeigten die Substanzen im UV-Bereich keinen hierfür typischen Kurvenverlauf. Eine Identifizierung als Stoffwechselprodukte des ATA waren wegen zu geringer Substanzmenge nicht möglich. Darüber hinaus kann es sich aber auch um Verunreinigungen im Harn gehandelt haben.

5. Untersuchung auf Konjugate des ATA

1 cm³ des Harns wurde mit 1/2 cm³ konz. HCL versetzt und 60 Minuten lang im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Neutralisation mit NaOH wurde mit Aqua dest. auf 2 ml aufgefüllt. Bei der quantitativen Bestimmung nach papierchromatischer Auftrennung wurden nur 50 mg% ATA festgestellt.

D. Zusammenfassung

Das bereits 1888 von CURTIUS und LANG synthetisierte 3-Amino-1, 2, 4-Triazol (ATA) wird auf Grund seines breiten phytotoxischen Wirkungsspektrums in Form von zahlreichen Einzel- und Kombinationspräparaten in großem Umfang angewendet.

Die akute orale LD₅₀ beträgt 1,47 g/kg Maus und 25 g/kg Ratte. Einige Schafe starben schon nach peroraler Gabe von 2 g/kg. Die Haut- und Inhalationstoxizität dürfte gering sein.

Charakteristisch ist die antithyroide Wirkung des ATA. Es verhindert die Synthese des Schilddrüsenhormons und führt zu Schilddrüsenveränderungen, die zum Teil als adeno-carcinomatös interpretiert werden.

ATA hemmt die Aktivität der Schilddrüsen-, Leber- und Nieren-Katalase und senkt die Aktivität der Peroxydase in Leber und Schilddrüse. Einen hemmenden Effekt hat es auf die δ -Aminolävulinsäure-Dehydrase der Leber. Bei Ratten wird die Entstehung eines Leberkrebses durch 4-Dimethylaminoazobenzol mit ATA signifikant gehemmt.

Applikation von ATA vor Röntgenbestrahlung verlängert bei Ratten und Mäusen die Überlebenszeit.

Wir konnten einen Fall beobachten, in dem eine 39-jährige Frau in suicidalen Absicht eine unbekannte Menge des herbicidwirksamen Mittels "USTINEX PA" (Bayer) eingenommen hatte. Die Krankengeschichte unseres Falles verlief unauffällig.

Symptome einer Vergiftung sind nicht aufgetreten, die Transaminasen entsprachen der Norm. Weder Zucker noch Eiweiß konnten im Harn festgestellt werden.

Metaboliten des ATA im pflanzlichen Organismus sind nachgewiesen und zum Teil identifiziert worden als 3-Amino-1, 2, 4-triazolyl-alanin, D-Glucose-3-ATA-addukt, Glycin-3-Amino-1,2, 4-Triazol-Derivat und als Komplexverbindungen des ATA mit Glycin und Serin.

Im Säugetierorganismus bilden sich verschiedene Stoffwechselprodukte des ATA, deren chemische Struktur unbekannt ist. Die Ausscheidung des ATA erfolgt beim Säugetier hauptsächlich über die Nieren.

Zum Nachweis von ATA im Harn nach einem Selbstmordversuch mit USTINEX PA (Bayer) erarbeiteten wir ein Verfahren zur Isolierung und IR-Identifizierung. Bei Anwendung eines Ionenaustauschers (Merck, stark sauer) können nach Zerstörung des Harnstoffes mit Urease 70 % des ATA quantitativ erfasst werden. Mit einer neuen papierchromatographischen Methode kann ATA im Harn bei Konzentrationen von 10-50 γ ATA/ml zu 100 % bis 87% quantitativ bestimmt werden. Der Vorteil dieser Methode besteht darin, daß sehr geringe Mengen Urin ausreichen, um ATA mit einer grossen Genauigkeit quantitativ zu bestimmen. Mit dieser Methode konnten wir im Harn der Patientin 100 mg% ATA feststellen. Die endgültige Identifizierung des ATA erfolgte über die Schmelzpunktbestimmung und ein IR-Spektrogramm. Stoffwechselprodukte des ATA wurden nicht gefunden.

Literaturverzeichnis

Aldrich, F.D. and S.R. Mc Lane, Jr.

A paper chromatographic method for the detection of 3-amino-1,2,4-triazole in plant tissues. Plant Physiol, 32, 153 (1957)

Alexander, N.M.

Iodide peroxydase in rat thyroid and salivary glands and its inhibition by antithyroid compounds. J. Biol. Chem. 234, 1530 (1959a)

Alexander, N.M.

Antithyroid action of 3-amino-1,2,4-triazole J. Biol. Chem. 234, 148 (1959b)

Algeri, E.J., and J.T. Walker

Paper chromatography for identification of the common barbiturates. Amer. J. Clin. Path. 22, 37, (1952)

Allen, W.W.

American Chemical Paint Company, Tech. Service Data Sheet H 60 (1955)

American Cyanamid Company:

Aminotriazol Tech. Data Sheet, July 1963

Astwood, E.B.

Cranberries, turnips, and goiter J. amer. med. Ass. 172, 1319-1320 (1960)

Beilstein

Handbuch der organischen Chemie, 4. Auflage Bd. 26, S. 137
Berlin, Springer 1931

Carter, M.C. and A.W. Naylor

The formation, in vivo, of a complex between 3-amino-1,2,4-triazole and a glycine-serine derivative. Plant Physiol. 34 suppl. vi (1959)

Carter, M.C. and A.W. Naylor

Metabolism of 3-amino-1,2,4-triazole in plants. Bot. Gaz. 122, 138 (1960)

Carter, M.C. and A.W. Naylor

Studies on an unknown metabolic product of 3-amino-1,2,4-triazole. Physiol. Plant 14, 20 (1961)

Durham, W.F.

Analytical methods for pesticides and antibiotics in food. Public Health Lab. Reports 19, 47 (1961)

Du Shane, G.

Cranberry smash. Science 130, 1447 (1959)

Eggert, R.G.

Unveröffentlichte Beobachtung (1959), zitiert nach Kröller, E.

Fang, S.C., M. George, and Te Chang Yu

Metabolism of 3-amino-1,2,4-triazole-5-C¹⁴ by rats. J. Agr. Food Chem. 12, 219 (1964)

Fang, S.C., Khanna, S., and Rao, A.V.

Further Study on the Metabolism of Labeled 3-Amino-1,2,4-triazole (ATA) and its Plant Metabolites in Rats. Agric. and Food Chemistry, Vol. 14, No. 3 Page 262, May/June 1966

Feinstein, R.N., S. Berliner, and F.O. Green

Mechanism of inhibition of catalase by 3-amino-1,2,4-triazole. Arch. Biochem. Biophys. 76, 32 (1958)

Feinstein, R.N., and Berliner, S.

Protection against X-irradiation by 3-amino-1,2,4-triazole, Vol. 125, 36, 1957

Fredrick, J.F., and A.C. Gentile

The formation of the glucose derivative of 3-amino-1,2,4-triazole under physiological conditions. Physiol. Plant 13, 761 (1960b)

Fredrick, J.F., and A.C. Gentile

The structure of the D-glucose-addukt of 3-amino-1,2,4-triazole. Infrared absorption studies. Arch. Biochem. Biophys. 92 356 (1961)

Friedberg, W.

Effect of Reduced Liver and Kidney Catalase Concentrations on lethality of X Irradiation in Rats (22660)
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 93, 52, 1956

Breitenlohner, I.

Biologischer Nachweis von Herbiziden, Dissertation, Erlangen 1966

Gibson, K.D. Neuberger, A., Scott, J.J.

Biochem. J. (London) 61, 618 (1955)

Golz, H.H.

Director of Industrial Health, American Cyanamid Company "Safety of Use of Aminotriazole"

Gowing, D.P.

A method of comparing herbicides and assessing herbicides mixtures at the screening level. Weeds 7,66 (1959)

Green, F.O., and R.N. Feinstein

Quantitative estimation of 3-amino-1,2,4-triazole. Anal.Chem. 29, 1658 (1957)

Hais und Macek

Handbuch der Papierchromatographie; G.Fischer Verlag, Jena, 1963

Hapke, H.-J., Rüssel, H., und Ueberschär, S.

Gefahren in der Anwendung von Aminotriazol. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift Nr. 9, 204-206, 1965

Heim, W.G., D.Appleman and H.T.Pyfrom

Production of catalase changes in animals with 3-amino-1,2,4-triazole. Science 122, 693, (1955)

Heim W.G., D.Appleman, and H.T.Pyfrom

Effects of 3-amino-1,2,4-triazole on catalase and other compounds. Amer. J.Physiol. 186, 19, (1956)

Herrett, R.A., and W.P.Bagley

The metabolism and translocation of 3-amino-1,2,4-triazole by Canada thistle (Cirsium arvense). J.Agr.Food Chem. 12,17 (1964)

Herrett, R.A., and A.J.Linck

Quantitative determination of 3-amino-1,2,4-triazole J.Agr.Food Chem. 9, 466 (1961a).

Hoshino, M.

Effect of 3-amino-1,2,4-triazole on the experimental production of liver cancer. Nature 186, 174 (1960)

Jukes, T.H., and C.B.Shaffer

Antithyroid effects of aminotriazole. Science 132,296 (1960)

Klimmer, O.R.

Pflanzenschutz und Schädlingsbekämpfungsmittel. Abriss einer Toxikologie und Therapie von Vergiftungen. Hundt-Verlag, Hattingen (1964)

Kröller, E.

Untersuchungen zur Restmengenbestimmung von 3-Amino-1,2,4-triazol in Preiselbeeren. Dtsch.Lebensmittel Rdsch. 57, 107 (1961)

Kröller, E.

Anwendung und Eigenschaften des 3-Amino-1,2,4-triazols im Hinblick auf seine Rückstände in Lebensmitteln. Residue Review, Vol.12 ed.by Gunther, F.A. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1966)

Kurth, H.

Chemische Unkrautbekämpfung. Jena, Gustav Fischer, 1960

Massini, P.

Uptake and translocation of 3-amino-1,2,4-triazole and 3-hydroxy-1,2,4-triazole in plants. Acta Botan. Neerl. 7, 524, (1958)

Massini, P.

Synthesis of 3-amino-1,2,4-triazolyllanine from 3-amino-1,2,4-triazole in plants. Biochem. Biophys. Acta 36, 548 (1959)
Vergl. hierzu auch Acta Botan. Neerl. 12, 64 (1964)

Miller, C.S., and W.C. Hall

Absorption and metabolism of aminotriazole in cotton.
J. Agr. Food Chem. 9, 210 (1961)

Mitchell, L.C.

Paper chromatography of 3-amino-1,2,4-triazole. J. Assoc. Official Agr. Chemists 43, 87 (1960)

Naylor, A.W.

Complexes of 3-amino-1,2,4-triazole in plant metabolism.
J. Agr. Food Chem. 12, 21 (1964)

Oser, B.

The experimental induction of cancer by pesticide residues and food additives, its rationale and interpretation. Residue Reviews 1, 6, (1962)

Potts, K.T.

The chemistry of 1,2,4-triazoles. Chem. Reviews 61, 87 (1961)

Racusen, D.

The metabolism and translocation of 3-aminotriazole in plants.
Arch. Biochem. Biophys. 74, 106 (1958)

Rogers, B.

Translocation and fate of aminotriazole in plants. Weeds, 5, 5, (1957b)

Römpf, Hermann

Chemie Lexikon, 6. Auflage, 1966, Franck'sche Verlagsbuchhandlung Stuttgart

Shaffer, C.B.

Aminotriazole-acute and subacute toxicity. American Cyanamid Company, Central Medical Dept. 1956, zitiert nach Kröller, E.

Shemin, D., and Russel, C.S.

Journal Am.Chem.Soc. 75, 4873 (1953)

Sterry, J.R.

Amitrole: Development and Present Status. (Amchem.S.A., Switzerland; Amchem Products, Inc., Ambler, Pa. U.S.A.)

Storherr, R.W., and J.Burke

Determination of 3-amino-1,2,4-triazole in crops.J.Assoc. Official Agr.Chemists 44, 196 (1961)

Sund, K.A.

Residual activity of 3-amino-1,2,4-triazole in soils.J. Agr.Food Chem. 4,57 (1956)

Sutherland, G.L.

3-Amino-s-triazole. In: G.Zweig, ed., Analytical methods for pesticides, plant growth regulators, and food additives. Vol.IV, p.3. New York and London: Academic Press 1964

Tschudy, D.P., and Collins, A.

Effect of 3-Amino-1,2,4-triazole on δ -Aminolevulinic Acid Dehydrase Activity.Science, Vol.126, 168 (1957)

Weir, R.J., O.E.Paynter, and J-R.Elsera

Toxicology of 3-amino-1,2,4-triazole. The Hormol^og 2,13-14 (1958).

Zum Schluß der Arbeit erlaube ich mir, Herrn Professor Dr.Dr.E.Weinig für die Überlassung des Arbeitsplatzes in seinem Institut meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Privatdozentin Dr.Dr.Geldmacher-v.Mallinckrodt für die zahlreichen Anregungen und für die große Hilfsbereitschaft, die mir die Fertigstellung dieser Arbeit ganz wesentlich erleichterten.

Herrn Dipl.-Chemiker G. Machbert danke ich für die Anfertigung der IR-Spektrogramme.

Der Firma BAYER-Leverkusen danke ich für die Überlassung der Reinsubstanz Aminotriazol.

Lebenslauf

Am 31.3.1939 wurde ich als Sohn des Verwaltungsdirektors Hans Schmidt und seiner verstorbenen Ehefrau Carla, geb. Rohwer in Kiel geboren.

Von 1946 bis 1952 besuchte ich die Volksschule in Selent/Holstein und Neustadt/Holstein, besuchte dann die Oberschulen in Eutin/Holstein und Schleswig und bestand dort im Frühjahr 1961 die Reifeprüfung.

Zunächst studierte ich Betriebswirtschaft in Münster/Westf., wechselte aber die Fakultät und begann im Sommersemester 1962 in Erlangen mit dem Medizin-Studium. Dort legte ich 1963 das Vorphysikum und 1965 das Physikum ab. Im Juli 1968 schloss ich mein Studium mit dem Staatsexamen in Erlangen ab.

Ich bin mit der Studienrätin Gunilla Schmidt, geb. Jangby, verheiratet.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
